Untersuchungen über die Bang'sche Zuckertitrationsmethode und Vergleich derselben mit einigen älteren Titrationsanalysen.

Inaugural-Dissertation

von

Paul Dilg.

Untersuchungen über die Bang'sche Zuckertitrationsmethode und Vergleich derselben mit einigen älteren Titrationsanalysen.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

einer

hohen medizinischen Fakultät

der

Ruprecht-Carls-Universität zu Heidelberg

vorgelegt von

Paul Dilg

aus

Heidelberg.

Heidelberg.
Buchdruckerei von J. Hanzelky.
1909.

Gedruckt mit Genehmigung der medizinischen Fakultät der Universität Heidelberg.

Dekan:
Prof. Ernst.

Referent:
Geh. Rat Prof. Krehl

1908.

Meinen lieben Eltern.

Unter den quantitativ-analytischen Methoden der Chemie stehen uns als beste die gravimetrischen und die titrimetrischen zu Gebote. Was die Genauigkeit der Resultate anbelangt, sind sie nahezu gleichwertig; für den praktischen Gebrauch jedoch wird auch der Chemiker der weniger umständlichen titrimetrischen Methode den Vorzug geben. In weit höherem Masse als der Chemiker ist aber der praktische Arzt darauf angewiesen, seine quantitativ-analytischen Untersuchungen mit möglichst einfachen Mitteln exakt ausführen zu können; auch er wird, zumal er kaum die Musse hat, sich die für eine gravimetrische Analyse erforderliche Übung aneignen zu können, sich lieber und besser mit der titrimetrischen Methode befassen.

Für den Fall, mit dem sich vorliegende Arbeit beschäftigen soll, für die quantitative Zuckeranalyse, sind ausser den gravimetrischen und titrimetrischen noch einige andere Methoden angegeben und auch gebräuchlich, so die Bestimmung durch Hefegärung und die Polarimetrie.

Mit diesen beiden Methoden werden ebenfalls gute Resultate erzielt; namentlich bietet die Polarimetrie den Vorteil, dass sie in kürzester Zeit ausführbar ist; für die Praxis dürfte sie deshalb sehr zu empfehlen sein.

Die titrimetrischen Methoden, mit denen sich diese Arbeit beschäftigen soll, sind heute wohl noch die gebräuchlichsten. Ihre Resultate hängen jedoch in hohem Masse von der Versuchsanordnung ab.

Denn es ist gerade der Traubenzucker ein Körper, dessen Analyse bei allen bis jetzt angewandten Methoden mit Schwierigkeiten verknüpft ist, die sich nur durch etwas kompliziertere Versuchsanordnung umgehen lassen.

Bei den bekannteren älteren Zuckertitrationsmethoden ist dies leider nicht erreicht worden; sie sind alle einer Reihe von Fehlern unterworfen, die sie an Genauigkeit einbüssen lassen.

Eine Methode hingegen, die von Ivar Bang[1]) vor einiger Zeit veröffentlicht wurde, schien sehr gute Resultate zu ergeben und infolge ihrer Anordnung auch für die Praxis Vorteile zu bieten.

Auf Veranlassung von Herrn Dr. Morawitz habe ich diese Methode von Bang in Theorie und Praxis einer genauen Nachprüfung unterzogen und sie mit den älteren Methoden, speziell mit der Fehling'schen, Pavy'schen und Knapp'schen verglichen.

Die gebräuchlichste aller dieser Analysen ist wohl die Titration nach Fehling. Sie wird so ausgeführt, dass verdünnte Fehling'sche Lösung während des Kochens mit der Zuckerlösung titriert wird; dabei wird das Kupferoxyd der Fehling-schen Lösung durch den Zucker zu Kupferoxydul reduziert, und dieses ist dann als hellrotes, feines Pulver in der Lösung suspendiert. Die Reaktion ist beendet, wenn die Lösung nicht mehr blau ist.

Es ist klar, dass der Endpunkt der Reaktion bei dieser Methode schwer zu erkennen ist, handelt es sich doch darum, die Farbe einer Flüssigkeit zu beobachten, die mit einem andersfarbigen Pulver erfüllt ist, das sich nur langsam und unvollkommen absetzt.

Wenn dies Moment die Analyse mit der Fehling'schen Lösung auch erschwert, so bedeutet es doch keinen eigentlichen Fehler. An solchen aber mangelt es der Methode keineswegs, und ich werde ausführlich davon zu sprechen haben. Immerhin war die Schwierigkeit, mit der das Erkennen der Endreaktion, d. h. des Farbumschlags hier verbunden ist, sehr deutlich, und es konnte als grosse Verbesserung begrüsst werden, als hier Abhilfe geschaffen wurde.

In der Pavy'schen Methode nämlich (ich meine hier die Sahli'sche[2]) und die Moritz'sche[3]) Modifikation) ist das Er-

---

1) Ivar Bang: Zur Methodik der Zuckerbestimmung. Biochem. Zeitschrift II, pag. 270, 1907.

2) Sahli: Über die Verwendbarkeit der Pavy'schen Zuckertitrationsmethode etc. Deutsche med. Wochenschrift 1905, Nr. 36.

3) In Rothmund, Kontrolle der Pavy'schen Methode etc. Inaug.-Diss. Heidelberg 1903.

kennen der Endreaktion durch Zusatz von Ammoniak zur Titrierflüssigkeit wesentlich erleichtert. Der Ammoniak hält das bei der Reduktion entstehende Kupferoxydul farblos in Lösung, so dass der Farbumschlag bei reinen Zuckerlösungen — von denen vorläufig nur die Rede sein soll — von blau zu wasserklar vor sich geht. Die Pavy'sche Methode wird im übrigen analog der Fehling'schen ausgeführt.

Hier schliesst sich die Bang'sche Methode an, die eine gleich vorzügliche Endreaktion besitzt; da sie aber im Prinzip wesentlich von den bis jetzt besprochenen abweicht, will ich vor ihr der Knapp'schen[1]) Methode Erwähnung tun.

Nach Knapp wird ein lösliches Quecksilberoxydsalz durch Zucker zu metallischem Quecksilber reduziert; das Quecksilber fällt fein verteilt aus. Dass die Reaktion beendet ist, d. h. dass alles Oxyd reduziert ist, soll daraus erkannt werden, dass Quecksilbersalz durch Prüfung eines Tropfens der Lösung mit rauchender Salzsäure und Schwefelwasserstoff dann nicht mehr nachweisbar ist. Auf das Herannahen dieses Zeitpunktes kann aus dem, namentlich bei der Harnuntersuchung kurz vorher erfolgenden Klarerwerden der Lösung geschlossen werden. Titriert wird auch hier mit der Zuckerlösung.

Ob durch dieses Verfahren, das ja wieder eine andere Endreaktion aufzuweisen hat, als die schon erwähnten, ihr Erkennen leichter wird als bei der Fehling'schen, wollen wir dahingestellt sein lassen, da wir ja in der Pavy'schen Methode schon eine brauchbare Lösung dieser Frage besitzen; und ohne Zweifel kann man doch bei der Pavy'schen Methode auch ohne viel Übung das Verschwinden der blauen Farbe sehr gut erkennen.

Die drei eben behandelten Methoden wurden deshalb miteinander besprochen, weil sie eine Gruppe für sich bilden, als deren Charakteristikum ich hervorheben möchte: die Titration mit der Zuckerlösung. Unter sich differieren sie, abgesehen von der Technik der Endreaktion nur wenig, jedenfalls nicht grundlegend.

Wesentlich anders gestaltet sich die Bang'sche Methode. Ich muss, um sie den andern Methoden gegenüberstellen zu können, ihre Ausführung genauer angeben.

Zur Verwendung kommt eine Lösung, die Kupfersulfat, Ka-

1) Olof Hammarsten: Lehrbuch der physiol. Chemie. 1907, S. 661.

liumkarbonat und -bikarbonat und Rhodankalium enthält; das Rhodankalium hat die Eigenschaft, sich mit dem bei der Reduktion durch Zucker entstehenden Kupferoxydul zu Kupferzyanür umzusetzen, und dieses vermag sich in überschüssigem Rhodankalium (solches ist hier vorhanden) farblos zu lösen. Durch vollständige Reduktion wird eine solche Lösung also wasserklar entfärbt.

Mit dieser „Kupferlösung“ soll der Zucker, der in einer bestimmten Menge Wasser oder Harn enthalten ist, auf einmal gekocht werden, und zwar soll die Lösung nach dem Kochen noch blau, d. h. noch nicht völlig reduziert sein. Die noch nicht reduzierte Kupfermenge wird dann durch Titration mit einem andern Reduktionsmittel bestimmt; als solches wird Hydroxylaminsulfat verwendet.

Das Prinzip ist also, mit überschüssiger Kupferlösung zu kochen, und durch Zurücktitrieren den nicht reduzierten Rest zu bestimmen; der Zuckerwert wird an einer empirischen Tabelle abgelesen.

Zur Ausführung werden 10 ccm Zuckerlösung, die bis 60 mg Traubenzucker enthalten dürfen, mit 50 ccm der Kupferlösung genau 3 Minuten auf dem Drahtnetz gekocht; sodann wird rasch auf Zimmertemperatur abgekühlt und die Lösung mit der auf die Kupferlösung eingestellten Hydroxylaminlösung titriert; kommt reine Zuckerlösung zur Verwendung, so ist die Titration beendet, wenn die blaue Farbe einer wasserklaren Platz gemacht hat. Aus der Menge der Hydroxylaminlösung geht dann an der Hand der Tabelle der Zuckerwert hervor.

Um diese Methode mit den andern vergleichen zu können, muss ich daran erinnern, dass sie, was die Endreaktion angeht, keiner unter ihnen nachsteht, denn diese verläuft bei ihr genau so wie bei der Pavy'schen, die in diesem Punkt die beste jener Methoden darstellt.

Es kommt aber, wie schon kurz erwähnt, nicht allzusehr auf die Art der Endreaktion an, da dadurch eine Methode vielleicht schwieriger auszuführen, nie aber direkt falsch wird.

Die Überlegenheit der Bang'schen Methode beruht vielmehr auf dem oben dargelegten Prinzip und auf der Anordnung ihrer Ausführung. Hiedurch ist es gelungen, die mannigfachen Fehler jener andern Methoden auszuschalten. Diese Fehler gehen aus den folgenden Versuchen und Überlegungen hervor.

Kocht man eine Menge Fehling'scher, Pavy'scher oder auch Bang'scher Lösung mit der Menge Zucker, die bei der gewöhnlichen Ausführung der betreffenden Methode zur Entfärbung nicht völlig hinreichte, länger, als der jeweils vorgeschriebenen Zeit entspricht, so tritt durchweg deutlich in Erscheinung, dass die Menge des Zuckers schon bald nach Überschreiten der bestimmten Kochdauer doch im Stande ist, die Lösung zu entfärben. Ebenso ist besonders schön bei der Bang'schen Lösung, von der zu diesem Zweck 50 ccm mit 60 mg Traubenzucker gekocht werden, zu zeigen, wie die, nach der ersten Minute des Kochens noch schön blaue Lösung am Ende der zweiten Minute bedeutend heller geworden ist, um nach der dritten Minute farblos zu sein.

Hieraus geht mit aller Deutlichkeit hervor, dass die Reduktionsgrösse des Zuckers in hohem Grade von der Kochdauer abhängig ist. Soxhlet hat zuerst auf diesen Punkt aufmerksam gemacht.

Genanntes Phänomen trifft bei der Knapp'schen Methode natürlich auch zu, nur lässt es sich hier nicht so gut verfolgen, da die Methode keinen Farbumschlag besitzt.

Die Reduktion durch Zucker ist also keine momentane Reaktion, sondern bedarf einiger Zeit. Wie lange sie sich hinzieht, geht aus Bang's Tabelle I[1]) hervor.

Tabelle I.

Angewandter Zucker	Dauer des Kochens in Minuten	ccm Hydroxylaminlösung zum Entfärben
50 mg	1	7,3
50 mg	2	6,2
50 mg	3	5,9
50 mg	5	5,1
50 mg	7	4,8.

Der Unterschied zwischen einer Kochdauer von 5 und 7 Minuten ist für die Reduktion nicht mehr gross, und man kann annehmen, dass wohl nach etwas mehr als 7′ die Reduktionskraft erschöpft ist; immerhin sind es aber 7 Minuten, und es muss betont werden, dass von ihnen bei der Titration mit jeder gebräuch-

1) Biochem. Zeitschrift 1907, 2, pag. 283.

lichen Methode immer nur ein willkürlich gewählter Teil in Anwendung kommt.

Es ist danach klar, dass die Befolgung der bei den älteren Methoden gegebenen Vorschriften mit Fehlern verbunden sein muss; denn, wie leicht zu zeigen, ist ja die Kochdauer der Zuckerlösungen bei ihnen eigentlich unbekannt, jedenfalls aber immer verschieden.

Braucht man z. B. zur Beendigung einer Titration 3 Minuten, so kocht der zuerst zugefügte Zucker 3 Minuten, der zuletzt zugefügte aber nur wenige Sekunden, und noch grösser wird der Unterschied, wenn man nach jedem Zusatz einige Zeit kocht (Knapp). Hierdurch wird also die Reduktionskraft des ersten Zuckerquantums sehr viel mehr ausgenutzt, als die des letzten. Ebenso kann auch — der Zuckergehalt ist ja nicht genau bekannt — der Zucker nie gleichmässig zugesetzt werden: es wird vielmehr entweder am Anfang das meiste zugefügt oder gegen die Mitte der ganzen Kochdauer, oder am Ende derselben.

Nie verläuft also eine Titration wie die andere, und es dürfte auch ein arithmetisches Mittel zwischen mehreren Werten, wie es z. B. bei unsicherer Endreaktion zum Ziel führt, kaum als genauerer Wert angesehen werden; denn dies ist selbstverständlich nur dann zulässig, wenn die Fehler Versuchsfehler sind, nicht aber, wenn sie auf einem falschen Prinzipe des Verfahrens beruhen, das dann ja immer nur wiederholt würde.

Dadurch etwa wäre es denkbar, bei den in Frage kommenden Methoden diesen Fehler auszuschalten, dass man nach jedem Zuckerzusatz so lange kochte, bis die ganze Reduktionskraft des Zuckers ausgenutzt wäre; aus Tabelle I ergibt sich hierfür eine Zeit von mehr als 7 Minuten! Praktisch ist dies jedoch wegen der hierdurch hervorgerufenen Wiederoxydation an der Luft, bei Pavy auch wegen des Entweichens des Ammoniaks unmöglich.

Aus der Abhängigkeit der Reduktionsgrösse des Zuckers von der Kochdauer entstehen also für alle Methoden, die mit der Zuckerlösung titrieren, Fehler; entsprechend seiner Methodik kann natürlich das Bang'sche Verfahren von diesem Fehler nicht getroffen werden.

Von ähnlicher Bedeutuug ist noch ein weiterer Punkt. Es ist eine bekannte Tatsache, dass der Zucker in verschiedener Konzentration verschieden stark reduziert.

Deshalb ist es z. B. nötig, die Resultate der Allihn'schen[1]) gravimetrischen Methode tabellarisch zu korrigieren. Zur Orientierung lasse ich (abgekürzt) einen Überblick über diese Tabelle (aus Salkowski) folgen.

Tabelle II.

Kupfer mg	Traubenzucker mg	Differenzen der benachbarten Werte
10	6,1	
		9,9
20	11,0	
		9,9
40	20,9	
		10,0
60	30,8	
		10,1
80	40,8	
		10,2
100	50,9	
		10,2
120	61,1	
		10,4
140	71,3	
		10,4
160	81,7	
		10,5
180	92,1	
		10,6
200	102,6	
		10,7
220	113,2	
		10,7
240	123,9	
		10,9
260	134,6	
		11,0
280	145,5	
		11,0
300	156,5	
		11,2
320	167,5	
		11,3
340	178,7	
		11,4
360	190,0	
		11,5
380	201,4	
		11,6
400	212,9	
		11,8
420	224,5	
		11,8
440	236,3	
460	248,1	

1) Salkowski, Praktikum der physiol. und pathol. Chemie, III. Aufl., pag. 265 ff.

Die Zwischenwerte wachsen hier von 9,9 auf 11,8 an. In geringerer Konzentration reduziert der Zucker also stärker als in grösserer. 50,9 mg Zucker reduzieren z. B. 100 mg Kupfer, während 400 mg Kupfer zur Reduktion 212,9 mg Zucker, d. h. mehr als $4 \times 50{,}9$ brauchen.

Ich möchte nur kurz darauf hinweisen, dass bei den kleinsten Werten der Allihn'schen Tabelle das Umgekehrte der Fall ist (aus obiger Tabelle nicht ersichtlich), doch wird die Richtigkeit dieses Gesetzes z. B. auch durch eine Tabelle nach Werten aus Bang's Arbeit bestätigt.

Tabelle III.

mg Zucker in 10 ccm	entfärbte Kupferlösung in ccm	Reduktionswert für je 5 mg Zucker
5	6,15	6,15
10	11,60	5,80
20	21,35	5,34
30	29,85	4,98
40	37,70	4,71
50	44,10	4,41
60	49,25	4,10

Aus dieser Tabelle geht mit noch viel grösserer Deutlichkeit hervor, dass der Traubenzucker in schwach konzentrierter Lösung stärker reduziert als in einer konzentrierteren.

Absolute Werte kann man natürlich dem Vergleich der beiden Tabellen nicht entnehmen, weil sie auf ganz verschiedenen Voraussetzungen basieren: doch kann mit Berücksichtigung gerade dieses letzten Punktes auf die allgemeine Giltigkeit des zu beweisenden Gesetzes geschlossen werden.

Demzufolge ist bei einem Titrationsverfahren, welches sich auf der Reduktionsfähigkeit des Traubenzuckers aufbaut, eine direkte Berechnung der Werte nicht möglich.

Dass jedoch eine empirische Tabelle auch nicht in jedem Falle diese Fehler beseitigen kann, geht aus folgender Überlegung hervor.

Wenn man die Resultate der Fehling'schen, Pavy'schen und Knapp'schen Methoden nach einer Tabelle umrechnen wollte, so müssten doch noch Fehler entstehen dadurch, dass die durch

den fraktionierten Zuckerzusatz sich fortwährend ändernde Konzentration in der Lösung zu sehr in die Hand des Beobachters gelegt ist. In einer Tabelle könnte dies nicht berücksichtigt werden. Es können also auch aus diesem Grunde kaum zwei Proben dasselbe Resultat geben. Über einen Durchschnittswert aus mehreren Proben gilt hier dasselbe wie oben.

So kann eine Methode, die die Zuckerwerte durch Rechnung ergibt, oder bei der mit der Zuckerlösung titriert wird, nicht als fehlerfrei bezeichnet werden.

Bei Fehling und Knapp ist dieser Fehler grösser als bei Pavy, da letzterer stärker (5—10mal) verdünnte Zuckerlösung benutzt, und somit der Gehalt an Zucker hier in geringeren Grenzen schwankt.

Die Bang'sche Methode ist frei von dem zuletzt besprochenen Fehler, da der Zucker hier gleich zugesetzt wird, und somit die definitive Konzentration von Anfang an schon hergestellt ist; ebenso hat sie ja auch den Vorzug der empirischen Tabelle.

So ist die Bang'sche Methode der Zuckertitration gewissermassen mustergiltig, und ich möchte ihren Weg deshalb noch einmal im Zusammenhang kurz skizzieren.

Eine bestimmte Menge Zuckerlösung wird von vorneherein in eine Kochflasche gebracht, mit überschüssiger Kupferoxydlösung eine bestimmte Zeit gekocht, dann wird zurücktitriert und aus dem erhaltenen Wert wird an vorher für die betreffende Kochdauer festgelegter Tabelle der Zuckerwert abgelesen.

Aus der Resttitration bei Bang können sich deshalb (mit Ausnahme eines später zu erwähnenden Punktes) keine Fehler ergeben, weil diese Reaktion hierbei momentan abläuft, und die Tabelle darauf eingestellt ist.

Nach der Moritz'schen[1]) Modifikation der Pavy'schen Methode wird ebenfalls die ganze Zuckermenge von Anfang an zugesetzt. Doch müssen hier erst Tastversuche vorhergehen, die den Zuckergehalt ziemlich genau, und zwar auf titrimetrischem Wege ermitteln sollen. Das zum Schluss nachgefügte Kochen mit der ganzen, ermittelten Zuckermenge stellt dann nur eine Kontrolle dar, während die eigentliche Titration vorherging. Die Werte

1) In Rothmund, Kontrolle der Pavy'schen Methode etc. I.-D. Heidelberg 1903.

werden schliesslich an einer Tabelle abgelesen. Zu diesem Verfahren bedarf es aber eines ziemlich komplizierten Apparates und einiger Übung; die Resultate sollen nach Rothmund „streng zuverlässig“ sein.

Ein Verfahren, bei dem mit überschüssigem Kupfersalz gekocht wird, ist auch von K. B. Lehmann[1]) ausgebildet; hierbei wird mit Jodalkali und Hyposulfit resttitriert.

Noch einige Punkte sind zu erwähnen, die die Vorteile der Bang'schen Methode erkennen lassen.

Vor allem ist einleuchtend, dass Methoden wie die Pavy'sche, bei der stärkster Ammoniak gekocht werden muss, und ebenso die Knapp'sche, bei der rauchende Salzsäure und Schwefelwasserstoff zur Verwendung kommen, für den praktischen Gebrauch, selbst im Laboratorium, wenig geeignet sind.

Die Knapp'sche Methode besitzt keine Farbenreaktion, deshalb sind ihr wohl die andern vorzuziehen. Die hier verwendete Lösung, die sich beim Kochen, namentlich mit Harn, trübt, wird zwar gegen Ende der Reaktion durch Absetzen des entstandenen molekular verteilten Quecksilbers (welches beim Harn die Phosphate mit niederreisst) etwas klarer, jedenfalls ist aber die Endreaktion immer durch eine entnommene Probe mittels HCl und H_2S festzustellen.

Die Fehling'sche Methode ist eigentlich, wenn sie wie oben angegeben — als Titration mit Farbumschlag — ausgeführt wird, die ungenaueste, hat sich aber infolge ihrer chemisch nicht stark wirkenden Agentien in der Praxis eingebürgert. Aber auch bei ihr kann, ähnlich wie bei Knapp, die Endreaktion durch eine der Lösung entnommene Probe festgestellt werden, z. B. so, dass man diese Probe mit Essigsäure ansäuert und mit Ferrozyankalium versetzt; sind dann noch Kupferoxydsalze in Lösung, so bildet sich ein rotbrauner Niederschlag von Ferrozyankupfer. Da Ferrozyankalium nur mit Kuprisalzen reagiert, so können hierbei keine Fehler unterlaufen. Von Menyhért[2]) ist diese Methode auch als Reagenzpapiermethode angegeben.

In dieser Form ist die Fehling'sche Titration der Knapp-

1) Lehmann, Archiv für Hygiene 30.
2) Deutsche med. Wochenschrift 1908, Nr. 36, pag. 1544.

schen überlegen; denn so besitzt sie eine analoge Endreaktion, deren Nähe sie aber durch ihren Farbumschlag leichter erkennen lässt.

Die Resultate mit Fehling'scher Lösung können Anspruch auf weit grössere Genauigkeit machen, wenn man auf folgende Weise verfährt: Man setzt bei einer Reihe von Versuchen zu je 10 oder 20 ccm Fehling'scher Lösung eine bei jedem Versuch um 1 ccm steigende Menge Zuckerlösung und kocht jede Probe mindestens 3 Minuten. Der Zuckergehalt liegt dann zwischen dem der letzten noch blauen und dem der darauf folgenden entfärbten Probe entsprechenden; genauer kann er noch durch interpolierende Zwischenversuche ermittelt werden. Durch Einführung einer empirischen Tabelle in diese Methode wäre sie nach dem oben festgestellten als fehlerfrei zu bezeichnen.

Es ist jedoch nicht zu leugnen, dass diese Methode zeitraubend und umständlich ist.

Es wurde bis jetzt im allgemeinen nur von der Verwendung der Methoden für reine Traubenzuckerlösungen gesprochen, und zwar deshalb, weil sich bei der Harnuntersuchung, wofür die Methoden ja ursprünglich geschaffen wurden, Momente störend in den Weg stellen, die eine genaue Betrachtung der speziellen Brauchbarkeit hinsichtlich ihrer Zuckerwerte erschweren.

Die Grundlage, auf der alle erwähnten Methoden aufgebaut sind, ist die reduzierende Eigenschaft des Traubenzuckers. Dieses Prinzip ist beim Harn infolge seiner physiologischen reduzierenden Substanzen eigentlich wenig angebracht. Da aber auch andere gärende und andere, die Ebene des polarisierten Lichts drehende Stoffe im Harn enthalten sind (oder sein können) neben Traubenzucker, so hat man für die Untersuchung des diabetischen Harns die reduzierende Eigenschaft des Zuckers doch noch mit einem gewissen Rechte beibehalten.

Was die reduzierenden Stoffe des normalen Harns betrifft, so seien ausser dem physiologisch vorkommenden Traubenzucker erwähnt: Isomaltose, dextrinartige Körper, tierisches Gummi, Glykuronsäureverbindungen, Harnsäure und Kreatinin (Lavesson).[1])

1) Lavesson, Beiträge zur Bestimmung der reduzierenden Stoffe im Harn. Biochem. Zeitschrift 1907, IV, pag. 40.

Stoffe, die die Ebene des polarisierten Lichts drehen, sind hauptsächlich: β-Oxybuttersäure, Laevulose, Eiweiss, gepaarte Glykuronsäuren, sog. Leo'scher Zucker und Zystin (Hammarsten,[1]) Rothmund).

Von gärenden Stoffen sei Laevulose erwähnt.

Als selbstverständlich muss vorweggenommen werden, dass eine jede der behandelten Methoden auf die reduzierenden Stoffe des Harns reagiert; durch einfachen Versuch im Reagenzglas ist dies zu zeigen.

Die Reduktionskraft eines normalen Durchschnittsharns kann so gross sein, dass 10 ccm die Bang'sche Lösung halbwegs entfärben, was einem Reduktionsvermögen von 0,3 %, auf Traubenzucker berechnet, entspricht.

Die Reduktion durch die normalen Harnbestandteile geht in derselben Weise vor sich wie durch Zucker; man erhält also aus dem Reaktionsablauf keinen Aufschluss über die ungefähre Reduktionsgrösse, die dem Harn eigentümlich ist, wenn derselbe noch Zucker enthält. Nur die Fehling'sche Methode erfährt hier eine Änderung. Bei ihr löst sich nämlich, wahrscheinlich im Verhältnis zu dem Gehalt an normalen Harnbestandteilen (v. Tappeiner[2])) das Kupferoxydul in statu nascendi auf und fällt nicht aus. Es ist dies die gleiche Erscheinung, die auch bei der Trommer'schen Probe beobachtet wird, nur hat sie für Fehling ziemlich wenig Bedeutung, während sie die Trommer'sche Probe sehr stört. Es ist bekannt, dass ein diabetischer Harn mit 0,2 % Traubenzucker eine positive Trommer'sche Probe gibt, d. h. Oxydul ausfallen lässt, während man einem normalen Harn eventuell bis zu 0,5 % Zucker zusetzen kann, ohne dass Oxydul ausfällt. Das geringere Lösungsvermögen des diabetischen Harns für Kupferoxydul ist nach v. Tappeiner die Folge der durch die Polyurie verminderten Harnsubstanzen.

Die Reduktionskraft eines Harns, der keinen Zucker enthält, kann direkt mittels einer Zuckermethode bestimmt werden; enthält der Harn aber Zucker, so muss man, um seine Reduktionsgrösse, resp. den Zuckergehalt zu ermitteln, einen der beiden reduzierenden Faktoren entfernen.

1) O. Hammarsten, Lehrbuch der physiologischen Chemie 1907.

2) v. Tappeiner, Anleitung zu chem.-diagn. Untersuchungen am Krankenbett.

Nach Lavesson ist hier zu empfehlen, den Harn, dessen Gesamtreduktionsgrösse man vorher durch Titration bestimmt hat, zu vergären, und nachher wieder zu titrieren. Die Abnahme der Reduktionskraft entspricht dann dem Zucker, der Rest ist durch die andern Harnbestandteile bedingt.

Die Resultate einiger solcher Bestimmungen lasse ich folgen.

Tabelle IV.

Spez. Gewicht	Zuckergehalt in %	Eigenreduktion des Harns, als Zucker berechnet
1020	—	0,155
1022	—	0,165
1022	—	0,30
1030½	—	0,32
1028	0,725	0,2
1031	0,73	0,27
1035	0,83	0,27
1038	4,45	0,15

Bei den normalen Harnen wurde der geringe physiologische Zuckergehalt vernachlässigt.

Bei den zuckerfreien Harnen zeigt die Tabelle ein Handinhandgehen der Reduktionswerte mit dem spezifischen Gewicht. Nicht trifft dies für die diabetischen Harne zu. Jedenfalls ist es nicht möglich, aus dem spezifischen Gewicht des Harnes einen ungefähren Anhaltspunkt für seine eigene Reduktionsgrösse zu gewinnen. — Grössere Tabellen hierüber finden sich in den schon zitierten Arbeiten von Lavesson und Rothmund.

Neben der Eigenreduktion des Harns ist auch seine Farbe von Bedeutung. Bei der Bang'schen Methode erfordert es nur wenig Übung, um den Farbumschlag, der dann über grün zu gelb vor sich geht, genau verfolgen zu können; auf ½ ccm Hydroxylaminlösung (= etwa ½ mg Zucker) ist er sicher zu erkennen.

Wie ich bis jetzt habe zeigen können, beruht die Bang'sche Methode der Zuckertitration auf einer theoretisch vollständig gesicherten Basis; demgemäss war zu erwarten, dass man sich auch in der Praxis auf ihre Zuckerwerte verlassen könne.

Um mich hierüber zu informieren, stellte ich eine Reihe von Versuchen an, deren Gang im folgenden wiedergegeben werden soll.

Zunächst suchte ich festzustellen, ob die Reaktionen stets glatt und ohne Störung verlaufen, oder ob sich vielleicht technische Schwierigkeiten ergeben. Bei den ersten Titrationen schien ein die Schärfe der Endreaktion wesentlich beeinträchtigendes Moment vorhanden zu sein; bei der Titration fiel nämlich ein weisser Niederschlag aus, der nur durch Zusatz von Rhodankali (in Substanz) zum Verschwinden gebracht werden konnte. Die Art und Weise des Auftretens und Verschwindens des Niederschlags erweckte den Anschein, als ob die Menge des Rhodankali in der Bang'schen Kupferlösung zu gering bemessen sei. — Das Rhodankali verhindert ja nur in reichlichem Überschuss das Ausfallen des Kupferrhodanürs. — Ich konnte jedoch denselben Niederschlag erhalten, wenn ich zu einer Mischung beider Bang'schen Lösungen eine geringe Menge destillierten Wassers zusetzte. Diese Erscheinung könnte darin ihre Erklärung finden, dass diese hochkonzentrierte Lösung sehr empfindlich auf eine Störung ihres osmotischen Druckes reagiert, und dass das Ausfallen des weissen Niederschlags die Folge dieser Störung ist. In der Tat konnte auch ohne erneuten Rhodanzusatz die Trübung leicht vermieden werden, wenn ich mit sorgfältig gereinigten und möglichst trockenen Kolben arbeitete.

Die bei der Titration sich entwickelnden Gasblasen (CO_2) stören nicht, wenn man mit dem Zulaufenlassen der Hydroxylaminlösung einige Male kurz aussetzt oder den Kolben umschwenkt; sie verschwinden dann sofort.

Meine weiteren Untersuchungen bezogen sich auf die von Bang angegebenen Lösungen und auf die Genauigkeit seiner Tabelle.

Die beiden Lösungen sind so aufeinander eingestellt, dass 1 ccm der Kupferlösung einem Kubikzentimeter der Hydroxylaminlösung entspricht.

Bei Herstellung der Kupferlösung (250 g K_2CO_3, 200 g KCNS, 50 g $KHCO_3$, 12.5 g [$CuSO_4 + 5H_2O$] im Liter) ergibt sich gewöhnlich ein kleiner Fehler, da nach Fertigstellung der Lösung im Masskolben ein kleiner Teil der Salze (Karbonate) ausfällt; hierdurch wird der Kupfergehalt relativ vermehrt. Der entstehende Fehler ist indessen so klein, dass er vernachlässigt

werden kann. Die Hydroxylaminlösung besteht aus 3,275 g Hydroxylaminsulfat und 100 g Rhodankali im Liter.

Die beiden Lösungen stehen, wenn sie mit reinen Substanzen angesetzt sind, meist gut aufeinander ein. Sie müssen natürlich, wie auch Jessen-Hansen[1]) hervorhebt, genau nach Bang's Vorschrift hergestellt sein. Wenn sie einstehen, ist eine Prüfung ihrer Richtigkeit im allgemeinen unnötig.

Für meine Versuche habe ich diese Prüfung so ausgeführt, dass ich 60 mg Traubenzucker, gelöst in 10 ccm Wasser, mit 50 ccm Kupferlösung drei Minuten lang kochte. Dabei soll, wenn die Lösung den richtigen Titer besitzt, die blaue Farbe fast verschwinden; beim Titrieren darf man dann nur etwa 0,75 ccm Hydroxylaminlösung brauchen, bis die Entfärbung vollständig ist. Es ist klar, dass es bei dieser Art der Prüfung auf den Titer der Hydroxylaminlösung fast gar nicht ankommt, da man nur so wenig davon braucht. Der zur Prüfung benutzte Traubenzucker muss natürlich chemisch rein und absolut wasserfrei sein.

Hat man die Kupferlösung als brauchbar erkannt, so kann man mit ihr den Titer der Hydroxylaminlösung direkt, oder besser durch Kochen als blinden Versuch, feststellen. Letzteres Verfahren verdient den Vorzug, weil seine Bedingungen die gleichen sind wie bei einer wirklichen Titration (Jessen-Hansen).

Die Haltbarkeit der Lösungen ist gut, wie Bang schon hervorhebt; auch die Hydroxylaminlösung ändert lange ihren Titer nicht wesentlich.

Es handelte sich weiter darum, die Werte, die Bang in seiner empirisch gewonnenen Tabelle niedergelegt hat, auf ihre Richtigkeit zu prüfen. Zur Orientierung füge ich sie hier an.

---

1) H. Jessen-Hansen: „Einige Bemerkungen über die Bang'sche Methode der Zuckerbestimmung", Biochem. Zeitschrift 1908, X. Band, pag. 249.

Tabelle V (die Bang'sche Tabelle).[1])

Hydroxyl-aminlösung in ccm	Zucker mg	H. ccm	Z. mg	H. ccm	Z. mg	H. ccm	Z. mg
43,85	5	28,65	20	16,15	35	5,90	50
42,75	6	27,75	21	15,35	36	5,35	51
40,65	7	26,85	22	14,60	37	4,75	52
40,60	8	26,00	23	13,80	38	4,20	53
39,50	9	25,10	24	13,05	39	3,60	54
38,40	10	24,20	25	12,30	40	3,05	55
37,40	11	23,40	26	11,60	41	2,60	56
36,40	12	22,60	27	10,90	42	2,15	57
35,40	13	21,75	28	10,20	43	1,65	58
34,40	14	21,00	29	9,50	44	1,20	59
33,40	15	20,15	30	8,80	45	0,75	60
32,45	16	19,35	31	8,20	46		
31,50	17	18,55	32	7,65	47		
30,55	18	17,57	33	7,05	48		
29,60	19	16,95	34	6,50	49		

Die Prüfung wurde von 5 zu 5 mg Zucker bis zu einem Maximalgehalt von 60 mg in 10 ccm Wasser ausgeführt. Der Zucker war nach Soxhlet hergestellter wasserfreier Traubenzucker der Firma Merck. Dieser Zucker verlor durch ca. 1 stündiges Erwärmen im Trockenofen auf 60° etwa 1‰ an Gewicht, nach weiteren 16 Stunden kaum noch ½ Prom. mehr. Fast dasselbe konnte im Vakuumexsikkator erreicht werden. Der Zucker konnte also nach längerem Aufenthalt im Exsikkator als völlig wasserfrei angesehen werden. Hiervon wurden Lösungen von 0,05—0,6%, um Intervalle von 0,05% ansteigend (entsprechend 5 – 60 mg Zucker in 10 ccm) hergestellt und damit titriert. Zu einer zweiten Serie von Versuchen diente eine 0,5%ige Zuckerlösung, von der 1—10 ccm zum Versuch benutzt wurden; die Differenz zu 10 ccm wurde mit destilliertem Wasser ergänzt.

1) 1908 erschien im Springer'schen Verlag eine neue, nach ccm Hydroxylaminlösung geordnete Tabelle von Bang.

Anfangs ergab sich bei diesen Versuchen, und zwar bei den niedrigeren Zuckerwerten — wo also viel Hydroxylaminlösung zur Resttitrierung nötig war — jedesmal ein von Bang's Angabe abweichendes Resultat. Die Entfärbung trat nämlich öfters bis zu einem Kubikcentimeter zu früh ein. Die folgende Tabelle möge dies erläutern.

Tabelle VI.

mg Zucker	Bang's Werte	gefundene Werte I	II
5	43,85	43,1	44,0
10	38,40	37,6	38,3
15	33,40	32,5	33,4
20	28,65	27,5	28,5
25	24,20	23,5	24,0
30	20,15	18,55	20,0
35	16,15	16,0	16,0
40	12,30	12,0	12,1
45	8,80	8,3	8,9
50	5,90	5,6	5,9
55	3,05	3,10	3,1
60	0,75	0,75	0,75

In der zweiten Kolumne sind die Werte der Bang'schen Tabelle angegeben; die dritte Kolumne enthält die Werte, die ich bei meinen ersten Titrationen fand. Die vierte gibt die Werte wieder, die ich erhielt, wenn ich die Kupferlösung nach dem Kochen etwas stärker abkühlte; um zu zeigen, wie gut schon die Resultate einmaliger Titration sind, habe ich hier keine Durchschnittswerte, sondern die einer einzelnen Versuchsreihe angegeben.

Was den Grad der Abkühlung nach dem Kochen anbelangt, so ist es unbedingt nötig, dass die Lösung bei der Titration nicht wärmer als 20° Celsius ist; jedenfalls ist die Abkühlung von grösserer Bedeutung, als für den Unbefangenen aus der Bang'schen Vorschrift hervorgeht. Jessen-Hansen bestätigt dies ebenfalls; er nimmt als beste Temperatur 18,5° an. Unter Berücksichtigung dieses Punktes werden dann aber auch vorzügliche Resultate erzielt. Die Fehlergrenze der obigen Versuchsreihe in Kolumne 4 lässt sich z. B. auf etwa $\pm 1\%$ des absoluten

Zuckergehalts berechnen; noch geringer wird der Fehler, wenn man sich nicht mit einer einzigen Titration begnügt, sondern dieselbe wiederholt. Auf diese Weise konnte ich feststellen, dass verschiedene Titrationen mit derselben Zuckerlösung in ihren Werten sich sehr nahe kommen und vor allem — was für uns hier das ausschlaggebende ist — auch mit der Bang'schen Tabelle ausgezeichnet übereinstimmen.

Jessen-Hansen macht noch darauf aufmerksam, dass es nicht ganz gleichgiltig ist, wie schnell man bei der Titration die Hydroxylaminlösung zufliessen lässt; für die richtige Zulaufgeschwindigkeit hält er eine solche von 20 ccm in 15″.

Wenn die klinische Zuckeruntersuchung auch mit nicht allzu genauen Werten zu rechnen braucht, und wenn man auch beim Harn selbst mit der Bang'schen Methode wegen der in dieser Arbeit erörterten Tatsachen keine absolut genauen Werte erhalten kann, so bedeutet sie doch einen Fortschritt; sie bietet die Vorteile eines einfachen, rasch und in jedem Raume ausführbaren Verfahrens und ist in ihren Zuckerwerten absolut zuverlässig. Ferner ist hervorzuheben, dass man bei hoch gestellten Harnen von allen Titrationsmethoden eigentlich nur mit der Bang'schen zu Wege kommt, zumal man in der Kälte titriert.

Für die quantitative Bestimmung reiner Traubenzuckerlösungen ist die Bang'sche Methode als die vollkommenste bis jetzt existierende zu bezeichnen.

Herrn Dr. Morawitz spreche ich für die Anregung zu dieser Arbeit und für seine freundliche Unterstützung meinen besten Dank aus.

Ich, Paul Dilg, Sohn des prakt. Arztes Dr. J. Dilg und seiner Ehefrau, geb. Grabe, wurde am 16. Juni 1885 in Heidelberg geboren. Ich bin evangelischer Confession und badischer Staatsangehörigkeit. Vom 9. bis 18. Lebensjahr besuchte ich das Grossherzogl. Gymnasium meiner Vaterstadt, wo ich im Herbst 1900 das Zeugnis der Reife zum Einj.-freiw. Dienst und 1903 das Abiturientenzeugnis erhielt. Von Herbst 1903 bis Herbst 1908 war ich an der Universität Heidelberg zum Zwecke des medizinischen Studiums immatrikuliert; Ende Februar 1906 bestand ich daselbst die medizinische Vorprüfung, Ende Dezember des Jahres 1908 das Staatsexamen.